

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dengan judul Jumlah Bakteri Asam Laktat dan *Coliform* dalam Ileum dan Seka Ayam Broiler yang Diberi Pakan Probiotik *Bacillus* plus Vitamin dan Mineral dilakukan pada bulan September – Oktober di kandang ayam, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Analisis bakteri asam laktat dan *Coliform* dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah *day old chick* (DOC) ayam broiler *unsexed strain Lohman* sebanyak 160 ekor dengan bobot awal rata-rata $35,42 \pm 0,42$ g. Jumlah petak/*pen* yang digunakan adalah 20 petak dengan alas kawat. Bahan pakan berupa pakan basal dengan suplemen berupa *Zinc Bacitracin* atau probiotik *Bacillus*.

Peralatan yang digunakan meliputi tempat pakan, tempat minum, *thermohygrometer* sebagai pengukur suhu dan kelembaban, lampu bohlam 60 watt dan blower. Peralatan dan perlengkapan untuk analisis yaitu oven untuk sterilisasi kering, autoklaf untuk sterilisasi basah, *Erlenmeyer* untuk tempat pembuatan medium, pipet volume untuk memindahkan sampel saat pengenceran, tabung reaksi untuk pengenceran sampel, cawan petri untuk kultur bakteri asam laktat dan *Coliform*, inkubator untuk menginkubasi biakan, dan *hand counter*

untuk menghitung jumlah koloni. Medium yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri yaitu *Mac Conkey Agar* untuk bakteri *Coliform* dan MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*) untuk bakteri asam laktat.

3.2. Metode

Penelitian dilaksanakan dalam 3 tahap, meliputi penentuan rancangan percobaan, tahap pelaksanaan penelitian dan tahap pengambilan data.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Setiap unit ulangan terdiri dari 8 ekor ayam . Perlakuan penelitian terdiri dari T0 = Pakan basal ; T1 = Pakan basal + antibiotik 0,04% ; T2 = Pakan basal + probiotik 0,5% ; T3 = Pakan basal + antibiotik 0,04% + probiotik 0,5% .

Data yang diambil pada penelitian ini adalah jumlah bakteri asam laktat dan *Coliform* pada ileum dan seka. Cara pengamatan terdapat dalam tahap pengambilan data.

3.2.2. Tahap Pelaksanaan Penelitian

Tahap persiapan kandang dan peralatan dilakukan dengan membersihkan kandang, pembuatan *pen*, pemasangan instalasi listrik, melakukan pengapuran, fumigasi, serta desinfeksi kandang dan peralatan yang digunakan selama proses pemeliharaan.

Pemeliharaan ayam broiler dilakukan selama 35 hari. Ayam broiler diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Penimbangan bobot *Day Old Chick* (DOC) ayam broiler dilakukan pada saat *chick in* dan penempatan DOC ke tiap *pen* masing-masing sebanyak 8 ekor. Pakan yang digunakan selama penelitian yaitu pakan basal sesuai yang tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Bahan Pakan, Persentase Penggunaan Serta Kandungan Nutrien Ransum.

Bahan Pakan	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
CPO	3,50	3,50	3,50	3,50
Dedak	4,45	4,45	4,45	4,45
Jagung	45,50	45,50	45,50	45,50
Tepung Gandum	10,00	10,00	10,00	10,00
Tepung Roti	5,00	5,00	5,00	5,00
MBM	2,80	2,80	2,80	2,80
CFM	2,00	2,00	2,00	2,00
CGM	3,60	3,60	3,60	3,60
DDGS	3,00	3,00	3,00	3,00
SBM	17,00	17,00	17,00	17,00
Elthreonin	0,08	0,08	0,08	0,08
Lisin	0,55	0,55	0,55	0,55
Metionin	0,37	0,37	0,37	0,37
Tepung Tulang	1,50	1,50	1,50	1,50
Garam	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	100	100	100	100
<i>Zinc Bacitracin</i>	-	0,04	-	0,04
<i>Bacillus sp.</i> Vitamin & mineral	-	-	0,50	0,50
Kandungan Nutrisi Pakan				
Energi Metabolis (kkal/kg)	3286	3286	3286	3286
Bahan Kering (%)	91,4	91,4	91,4	91,4
Protein Kasar (%)	21,7	21,7	21,7	21,7
Lemak Kasar (%)	5,90	5,90	5,90	5,90
Serat Kasar (%)	6,79	6,79	6,79	6,79
Abu (%)	10,9	10,9	10,9	10,9
BETN	8,6	8,6	8,6	8,6

Ayam diberi vaksin *Newcastle Disease* (ND) umur 4 hari dengan cara tetes pada mata, sedangkan pada umur 14 hari diberi vaksin *Infectious Bursal Disease* (IBD) melalui air minum dan pada umur 18 hari ayam diberi vaksin ND melalui air minum.

3.2.3. Tahap Pengambilan Data

Data yang diambil pada penelitian ini adalah jumlah bakteri asam laktat dan *Coliform* pada ileum dan seka. Pengambilan sampel dilakukan pada saat ayam berumur 35 hari. Ayam diambil 1 ekor secara acak dari masing-masing pen kemudian ayam disembelih dan diambil bagian ileum dan seka. Digesta dari ileum dan seka diambil kemudian ditempatkan di dalam plastik klip dan selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengujian. Tahap analisis dimulai dengan sterilisasi alat, medium dan tabung reaksi yang berisi aquades 9 ml. Sterilisasi alat dengan menggunakan oven suhu 170°C selama 1 jam sedangkan sterilisasi medium dan tabung reaksi menggunakan autoklaf.

Tahap perhitungan total BAL dan *Coliform* dengan menggunakan metode pengenceran, caranya yaitu diambil 1 gram digesta kemudian dicampur 9 ml aquades dan dilakukan homogenisasi dan diperoleh pengenceran 10^{-1} . Satu ml suspensi dari tabung pertama kemudian dimasukkan ke dalam tabung kedua, tabung tersebut di vortex hingga homogen dan diperoleh pengenceran 10^{-2} , 1 ml dari tabung kedua kemudian dimasukkan ke tabung ketiga, tabung tersebut di vortex dan diperoleh pengenceran 10^{-3} , dan seterusnya sampai dengan pengenceran sampai 10^{-6} . Uji *Coliform* menggunakan pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4}

sedangkan BAL menggunakan pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} . Pengenceran yang dimaksud ditanam pada masing-masing media, untuk BAL menggunakan MRSA, untuk *Coliform* menggunakan *Mac Conkey*. Cawan berisi sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam secara anaerob untuk uji BAL sedangkan uji *coliform* pada suhu 37°C selama 24 jam secara aerob (Halimatunnisroh, 2017).

Total BAL dan *Coliform* dihitung dengan metode hitungan cawan atau *total plate count* (TPC). Pelaporan hasil perhitungan menggunakan metode *standart plate count* (SPC). Perhitungan total BAL dan *Coliform* dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Fardiaz, 1992) :

$$\text{Total Bakteri Asam Laktat} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

$$\text{Total } \textit{Coliform} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

3.3. Analisis Data

Data hasil penelitian diolah secara statistik menggunakan analisis ragam data rancangan acak lengkap pada taraf 5%.

Model linier rancangan percobaan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Jumlah total BAL dan *Coliform* dalam saluran pencernaan ayam broiler ke -j yang memperoleh perlakuan penambahan probiotik *Bacillus* plus vitamin dan mineral dalam ransum ke-i

i : Perlakuan ke 1,2,3,4

j : Ulangan ke 1,2,3,4,5

μ : Nilai tengah umum jumlah total BAL dan *Coliform* dalam saluran pencernaan ayam broiler.

T_{ij} : Pengaruh perlakuan penambahan probiotik *Bacillus* plus vitamin dan mineral dalam ransum ayam broiler ke- i .

ε_{ij} : Pengaruh galat percobaan pada jumlah total BAL dan *Coliform* dalam saluran pencernaan ayam broiler ke- j yang memperoleh perlakuan penambahan probiotik *Bacillus* plus vitamin dan mineral ke- i .

Hipotesis statistik yang diuji yaitu :

H_0 : $t_0 = t_1 = t_2 = 0$ (Penambahan probiotik *Bacillus* plus vitamin dan mineral dalam ransum tidak berpengaruh terhadap total BAL dan *Coliform* pada ayam broiler).

H_1 : minimal ada satu $t_i \neq 0$ untuk $i = 0,1,2,3$ (Penambahan probiotik *Bacillus* plus vitamin dan mineral dalam ransum berpengaruh terhadap total BAL dan *Coliform* pada ayam broiler).

Kriteria pengambilan keputusan hipotesis tersebut adalah :

Apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$ dengan $\alpha = 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

Apabila $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ dengan $\alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Apabila $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ dengan $\alpha = 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan pada taraf 5% (Steel dan Torrie, 1993).